

ARTICULO ORIGINAL

Prevalencia de anticuerpos antimaláricos en donantes del banco de sangre del Hospital Universitario San Vicente de Paúl de Medellín, Colombia

Jhon M. Ortiz, José C. Humanez, Adriana L. Pabón, Sylvia Blair

Resumen

Se determinó la prevalencia de anticuerpos antimaláricos, tipo IgG, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI), en 392 sueros de donantes voluntarios de sangre del Hospital Universitario San Vicente de Paúl, recolectados durante los meses de septiembre y octubre del año 1995 y mantenidos en congelación a -70 °C durante 36 meses. La prevalencia de seropositividad fue de 1,8% (7 donantes), de los cuales, tres tenían el antecedente de haber vivido en zona endémica para malaria; de éstos, dos habían sufrido malaria, por lo menos, una vez en la vida; los cuatro donantes restantes no habían vivido en zona endémica para malaria ni tenían antecedentes de haberla padecido. Todos los donantes tuvieron gotas gruesas negativas para *Plasmodium*.

Para tratar de reducir el riesgo de malaria transfusional, se recomienda informar en forma clara a los donantes sobre las áreas endémicas para malaria en el departamento, complementar la encuesta que realizan los bancos de sangre con gota gruesa en todas las unidades de sangre que se vayan a transfundir y determinar anticuerpos antimaláricos en todos los donantes de riesgo con encuestas sospechosas y que puedan ser transmisores potenciales de *Plasmodium*.

Palabras clave: malaria transfusional, anticuerpos antimaláricos, bancos de sangre.

Antimalaric antibodies prevalence in blood donors at the University Hospital "San Vicente de Paul" in Medellín, Colombia

Abstract

The IgG type antimalaric antibodies prevalence was determined by immunofluorescence assay (IFA) in 392 serum samples of blood donors from University Hospital San Vicente de Paul Medellín, Colombia. The samples were collected during September and October, 1995 and were stored at -70 °C. The seropositivity was 1.8% (7 donors); three of them had antecedents of living in a malaric endemic region, and two of them had suffered malaria at least once in their lifetime, while other four donors had neither lived in malaric endemic regions nor had antecedents of having suffered it. All the donors had negative thick blood smears for malaria parasites. We recommend to inform blood donors about the whereabouts of malaric endemic regions in Antioquia, as well as complementing the blood banks survey with a thick blood smear screening for all units of blood that will be

transfused, and to determine antimalaric antibodies in donors that may be suspected to be potential transmitters of *Plasmodium*, in order to reduce the risk of transfusional malaria.

Key words: transfusional malaria, antimalaric antibodies, blood banks.

Introducción

La historia de la malaria transfusional data de 1884, cuando Gerhardt demostró en dos sujetos que la malaria podía ser transmitida por inoculación de sangre (1). El primer caso de malaria como una consecuencia accidental de transfusión de sangre fue descrito por Woolsey, en 1911, en los Estados Unidos, en un paciente con anemia perniciosa, quien desarrolló una infección por *Plasmodium vivax* once días después de recibir sangre de un donante de quien no se conocían antecedentes de malaria (2).

La incidencia de malaria transfusional (MT) varía entre 0,25 casos por millón de unidades transfundidas (Estados Unidos, Reino Unido) y más de 50 casos por millón en algunas regiones endémicas (3-5).

La sangre almacenada entre 4 y 6 °C mantiene la viabilidad de los parásitos hasta por 14 días, aunque la mayoría de las infecciones transfusionales han ocurrido cuando la sangre ha sido almacenada menos de 5 días (6-8). Además, el uso de adenina en la sangre como preservativo puede aumentar la supervivencia del parásito entre 25 y 40 días (9).

En condiciones naturales, la infección malárica ocurre en el hombre cuando el plasmodio es transmitido por picadura de una hembra de anófeles infectada (6,10), pero, también, puede adquirirse por transfusión de productos sanguíneos parasitados, tales como sangre entera o glóbulos rojos empacados (11-17), concentrado de leucocitos (18), concentrado de plaquetas (19), plasma fresco (20,21), por exposición congénita (22), por empleo de agujas y jeringas contaminadas, en usuarios de drogas intravenosas (23, 24), mediante trasplantes de órganos (25-29) y por hemodiálisis (10).

La gota gruesa es el método de diagnóstico más utilizado en malaria; presenta una sensibilidad del

80% en pacientes sintomáticos y mucho menor en los asintomáticos, ya que éstos presentan parasitemias muy bajas, entre 1-2 parásitos mm³ de sangre, por lo cual no se detectan fácilmente en gota gruesa, pero pueden alcanzar entre 400.000 y 800.000 parásitos por unidad de sangre, cantidad suficiente para producir una infección post-transfusional (30).

En Colombia, 85% del territorio nacional es apto para la transmisión y 72% de la población está en riesgo de enfermar de malaria (31). La población en riesgo malárico ha aumentado considerablemente entre 1967 y 1997, pues a pesar del descenso en las muestras examinadas, que disminuyeron en un 29,3%, la infección malárica aumentó en 580,8% y, específicamente, la infección por *Plasmodium falciparum* en ese mismo período aumentó 468,9% (datos no publicados).

En Antioquia, la infección malárica aumentó en un 1.068,8% durante este mismo período; 80% del territorio tiene condiciones especiales para la transmisión de la malaria y 29 de sus municipios (51% del área geográfica del departamento) son de alto riesgo malárico. El 15,5% de la población antioqueña, o sea, alrededor de 720.000 personas, habitan en áreas como el Bajo Cauca, Urabá y el Magdalena Medio, zonas donde las condiciones generadas por la violencia, como la pobreza y el desempleo, obligan a sus habitantes a desplazarse a las grandes ciudades, en especial a Medellín.

En Colombia son pocos los estudios de determinación de anticuerpos antimaláricos en donantes de sangre; sólo se conoce el realizado por el Instituto Nacional de Salud, en 1982, en el cual se encontró una positividad de 8,6/1.000 en las 3.114 muestras analizadas para anticuerpos antimaláricos (0,86%) por la técnica de ELISA (32). En 1998, se publicó un estudio de tamizaje con gota gruesa para detectar *Plasmodium sp.*

llevado a cabo en seis bancos de sangre de seis departamentos de Colombia: Antioquia, Caquetá, Casanare, La Guajira, Guaviare y Putumayo, donde se realizaron 8.625 gotas gruesas a donantes de sangre y se encontró únicamente una gota gruesa positiva para malaria (prevalencia 0,01%) (33), cifra que contrasta con la amplia distribución de la enfermedad; en esta publicación se hace referencia a otro estudio de tamizaje con gota gruesa en donantes, realizado en Bucaramanga en 1.800 donantes, que mostró una prevalencia de 0,32% (datos no publicados).

Dado que el Hospital Universitario San Vicente de Paúl de Medellín (HUSVP) es un hospital de tercer nivel de atención que recibe pacientes de diferentes zonas geográficas de Antioquia y Colombia (muchas de ellas con presencia de malaria), el presente trabajo pretende determinar la prevalencia de anticuerpos antimaláricos, tipo IgG, mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta en algunos donantes de su banco de sangre.

Materiales y métodos

Este es un estudio piloto de tipo descriptivo y prospectivo. La población de estudio estuvo constituida por 392 donantes voluntarios procedentes de diferentes lugares del departamento de Antioquia, que acudieron al banco de sangre del Hospital Universitario San Vicente de Paúl (HUSVP) entre los días 7 de septiembre y 19 de octubre de 1995. El único requisito en relación con la malaria que exigía el banco de sangre en el año de 1995, era que la persona llevara, por lo menos, 4 meses por fuera de zona endémica.

Prevía autorización del director del banco de sangre y de cada uno de los donantes, se procedió a diligenciar una encuesta que incluía datos de edad, sexo, procedencia y permanencia en la zona endémica, tiempo transcurrido después de haber llegado de la zona endémica y antecedentes maláricos.

Concomitantemente con la extracción de sangre por punción venosa para la donación, se tomaron 5 ml de sangre en un tubo estéril sin anticoagulante, debidamente marcado con el código de cada donante; el suero se separó

mediante centrifugación a 3.000 rpm durante 5 minutos y luego fue almacenado a -70°C hasta el momento de hacer la inmunofluorescencia indirecta (octubre de 1998).

Para realizar el diagnóstico de malaria se hicieron dos gotas gruesas por donante, que se colorearon por el método de Field (34); el informe contempló la especie de *Plasmodium* y el recuento de parásitos/mm³ según la metodología utilizada en el Laboratorio de Hemoparásitos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia (35). La placa se examinó con un objetivo de 100x en todos sus campos. El resultado se consideró positivo cuando se observó más de una forma de *Plasmodium* y se valoró como negativo cuando no se encontraron parásitos en 100 campos microscópicos.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La técnica empleada se basó en la descrita por Hijmans *et al.* (36).

Antígeno. El antígeno se obtuvo a partir de cultivos continuos de *P. falciparum* cepa FCB-2, proveniente del Laboratorio de Hemoparásitos de la Universidad de Antioquia, siguiendo la técnica de Trager y Jensen (37), luego se sincronizó para la obtención de esquizontes por el método de sorbitol (38). La dilución del antígeno se realizó hasta obtener un promedio de 20 a 25 parásitos/campo; 20 μl de la dilución de antígeno se dispensaron en cada uno de los pozos de las láminas para IFI y se dejaron secar a temperatura ambiente durante dos días para permitir una mejor fijación del antígeno. Con el antígeno empleado, es posible detectar anticuerpos de cualquiera de las cuatro especies de *Plasmodium* infectantes en el hombre, pero con títulos más bajos si se compara con los títulos que se obtienen cuando se usan antígenos homólogos.

Conjugado. Se utilizó gammaglobulina anti-IgG humana marcada con fluoresceína, a una dilución de 1:80 (Biomerieux).

Sueros. Los sueros problema se descongelaron dejándolos a temperatura ambiente y, luego, se diluyeron en tampón de fosfato (PBS), pH 7,17, a partir de una dilución de 1:16. Se utilizaron dos tipos de sueros controles: uno negativo, obtenido

de una persona que nunca había padecido de malaria, y otro positivo, de una persona con infección malárica comprobada y con título de anticuerpos de 1:256.

Procedimiento. Se diluyeron los sueros en tampón de fosfato (PBS) a partir de una dilución de 1:16 y se transfirieron 20 µl de cada dilución de los sueros a las láminas que contenían el antígeno. Después de incubar durante 30 minutos a 37 °C, las placas se lavaron dos veces con PBS durante cinco minutos cada vez y se dejaron secar a temperatura ambiente; luego, se agregaron 20 µl de la dilución del conjugado, se incubaron nuevamente durante 30 minutos a 37 °C y se lavaron dos veces con PBS durante cinco minutos y una vez con agua destilada durante 5 segundos. Se adicionó glicerina a cada placa de IFI sensibilizada en cantidad suficiente para fijar las láminas cubreobjetos y, finalmente, se procedió a la lectura. Inicialmente, todos los sueros se sometieron a un tamizaje de anticuerpos a una dilución de 1: 32 y, posteriormente, los sueros que dieron títulos positivos, se diluyeron hasta 1: 512.

Lectura e interpretación. La lectura se realizó en un microscopio de fluorescencia marca Leitz. Se consideró como título final la mayor dilución del suero en la cual se presentaba fluorescencia nítida (intensidad mayor de 50% en toda la superficie del parásito). Se estableció como dilución no reactiva aquella en la cual no se observaba fluorescencia de los parásitos o un título menor de 1:32 y, como dilución reactiva, a aquella con un título mayor o igual a 1:32 para Ig G.

Análisis estadístico

Se basó en el análisis de las asociaciones entre las diferentes variables epidemiológicas e inmunológicas de los donantes del banco de sangre incluidos en el estudio. Se hizo el estudio de las razones de prevalencia. Este análisis se realizó con la ayuda del programa EpiInfo, versión 6,04.

Resultados

Los 392 donantes tenían edades comprendidas entre los 18 y 60 años, con un promedio de edad

de 31 años; 115 (29,3%) eran mujeres y 277 (70,7%) hombres. En total, 72 donantes (18,4%) relataron haber estado en zona endémica para malaria y, de ellos, 37 (51,4%) estuvieron menos de 1 año; 24 (33,3%) entre 1 y 5 años y 11 (15,3%) habían permanecido durante más de 5 años en la zona endémica.

De los 72 donantes que habían estado en zona malárica, 17 (24%) refirieron haber dejado el área menos de 1 año antes del estudio, 28 (39%) entre 1 y 5 años, 16 (22%) entre 5 y 10 años y 11 (15%) más de 10 años antes. De estos mismos 72 donantes, 13 (18%) relataron haber sufrido, por lo menos, un ataque de malaria en su vida. Por otra parte, un donante, entre 320, relató haber sufrido de malaria y no haber estado en zona endémica. El cuadro 1 muestra la distribución por sexo de los donantes que relataron haber estado en zona endémica y los que tenían antecedentes palúdicos.

El 100% de las gotas gruesas realizadas a la sangre de los 392 donantes resultaron negativas para especies de *Plasmodium* y todas fueron también negativas para el virus de inmunodeficiencia humana, hepatitis B, hepatitis C, enfermedad de Chagas y sífilis, excepto una muestra que resultó positiva para enfermedad de Chagas, la cual presentó anticuerpos anti-maláricos de tipo IgG con un título de 1:32.

En el examen para detectar anticuerpos antimaláricos tipo IgG por inmunofluorescencia indirecta se encontraron títulos positivos en 7 personas (1,8%): dos donantes presentaron

Cuadro 1. Número y porcentaje de donantes que estuvieron en zona endémica o tenían antecedentes de malaria, según el sexo.

| Sexo | Número y (porcentaje) | Zona endémica | | Antecedentes de malaria | |
|--------------|-----------------------|---------------|------------|-------------------------|------------|
| | | Si | No | Si | No |
| Hombre | 277 (71) | 58 | 219 | 13 | 264 |
| Mujer | 115 (29) | 14 | 101 | 1 | 114 |
| Total | 392 (100) | 72 | 320 | 14 | 378 |

X² M-H= 4,15
p= 0,0415642
X² Yates= 3,60
p= 0,0577989
X² Fisher 1c= 0,0497535
X² Fisher 2c= 0,0750528

Cuadro 2. Características epidemiológicas de los siete donantes positivos para IgG anti-*Plasmodium* por IFI.

| | Donantes positivos | | | | | | |
|--------------------------------|--------------------|------|------|-------|-------|-------|---------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7Título |
| 1:32 | 1:32 | 1:64 | 1:64 | 1:128 | 1:256 | 1:256 | |
| Sexo | F | M | F | F | M | M | M |
| Edad(años) | 39 | 28 | 48 | 19 | 26 | 58 | 23 |
| Estadía zona endémica (años) | NO | NO | NO | >5 | >5 | NO | <1 |
| Antecedente de malaria | NO | NO | NO | NO | SI | NO | SI |
| Salida de zona endémica (años) | NO | NO | NO | 3 | 4 | NO | 5 |

NO: el donante no estuvo en zona endémica.

títulos de 1:32, dos tenían títulos de 1:64, uno con títulos de 1:128 y dos con títulos de 1:256. En el cuadro 2 se muestran las características epidemiológicas de los donantes positivos para anticuerpos antimaláricos por IFI. El 57% de los sueros positivos es de hombres; 43% pertenece a personas que habían estado en zona malárica y 29% corresponde a personas con antecedentes personales de haber sufrido la malaria años atrás.

De los 72 donantes que relataron haber estado en zona endémica para malaria, sólo 3 (4,1%) presentaron títulos positivos para anticuerpos antimaláricos y, de los 14 donantes (3,57%) con historia previa de malaria, sólo 2 (14,2%) presentaron anticuerpos positivos (cuadros 3 y 4). No existe asociación estadísticamente significativa entre el resultado de los anticuerpos (positivo/negativo) y la variable "antecedentes de estadía en zona endémica para malaria", en tanto que sí existe tal asociación con la variable "antecedentes de haber sufrido malaria".

Hay asociación significativa entre la variable "tiempo de permanencia en zona endémica de malaria" y la variable "resultado de IFI" (cuadro 5). Al comparar los promedios de tiempo transcurrido después de haber abandonado la zona endémica de malaria de quienes tienen IFI positiva o negativa, se encuentra que no hay diferencia estadísticamente significativa, ($X^2=0,029$; $gl=1$; $p=0,864572$).

Discusión

La seropositividad de 1,8% de anticuerpos antimaláricos de tipo IgG por IFI en una muestra de 392 sueros de donantes voluntarios del banco de sangre del Hospital Universitario San Vicente de Paúl, es un poco menor de 1,98%, encontrado

Cuadro 3. Resultado de la IFI para anticuerpos anti-*Plasmodium* según antecedentes de permanencia en zona malárica.

| Zona endémica | IFI | | Total |
|---------------|----------|----------|-------|
| | Positiva | Negativa | |
| Presente | 3 | 69 | 72 |
| Ausente | 4 | 316 | 320 |
| Total | 7 | 385 | 392 |

RD: 3,49; intervalo de confianza de 95%: 0,59-18,9
 X^2 Fisher 2 colas $p=0,1193038$

Cuadro 4. Resultado de la IFI para anticuerpos anti-*Plasmodium* según tiempo de permanencia en zona endémica de malaria.

| Permanencia en zona endémica | IFI | | Total |
|------------------------------|----------|----------|-------|
| | Positiva | Negativa | |
| Menos de 1 año | 1 | 36 | 37 |
| 1 a 5 años | 0 | 24 | 24 |
| Más de 5 años | 2 | 9 | 11 |
| Total | 3 | 69 | 72 |

$X^2=6,65$; $gl=2$; $p=0,03591617$

Cuadro 5. Resultado de IFI para anticuerpos anti-*Plasmodium* según antecedentes de malaria.

| Malaria Antecedentes | IFI | | Total |
|----------------------|----------|----------|-------|
| | Positiva | Negativa | |
| Presente | 2 | 12 | 14 |
| Ausente | 5 | 373 | 378 |
| Total | 7 | 385 | 392 |

RD: 12,43; intervalo de confianza de 95%: 1,47-86,42
 X^2 Fisher 2 colas $p=0,0224848$

en un estudio realizado en Sao Paulo (Brasil) en una muestra de 1164 donantes aptos (39) y un poco mayor a 1,7%, hallado en Venezuela en una muestra de 890 donantes de diferentes áreas geográficas del país (40).

En nuestro estudio, no se hizo seguimiento a las unidades de sangre recolectadas, por lo que desconocemos la aparición de algún caso de malaria transfusional ocasionada por alguna de estas unidades; además, en el HUSVP no se llevan registros de los casos de malaria inducida por transfusiones y, por tanto, no hay conocimiento sobre la real incidencia de dichos casos en el Hospital.

No se presentó relación entre la edad y el sexo y la positividad de los títulos de anticuerpos antimaláricos; éstos se distribuyeron en forma similar en ambos sexos (mujeres 43% y 57% en hombres) y en el rango comprendido entre 19 y 58 años de edad.

Cabe destacar que 57% (4 casos) de los sueros positivos para anticuerpos antimaláricos, pertenecían a personas que afirmaron no haber estado en zona endémica para malaria; esto podría indicar que tales donantes posiblemente no informaron la verdad en el momento de la encuesta, o no recordaron sus episodios anteriores de malaria, o no saben cuáles son las zonas endémicas para malaria; estas fallas también se han informado en otros trabajos (5, 41).

De los 72 donantes que afirmaron haber permanecido en zona endémica para malaria, sólo 3 (4,1%) presentaron títulos positivos para anticuerpos antimaláricos, lo cual no se relaciona completamente con lo informado por otros estudios, que indican que la prevalencia de anticuerpos antimaláricos es alta en personas de áreas endémicas para malaria sometidas a una continua exposición y al constante reto antigénico, que les permite desarrollar una inmunidad para malaria (39, 42, 43); sin embargo, cabe resaltar que los donantes de nuestro trabajo tenían meses o años de no residir en zonas endémicas y, por tal motivo, sus títulos de anticuerpos antimaláricos pudieron haber descendido. Lo mismo pudo haber sucedido con aquellos donantes que afirmaron haber sufrido malaria en el pasado y que no presentaron títulos de anticuerpos antimaláricos positivos, pues se ha visto que los títulos disminuyen gradualmente cuando cesa el estímulo e inmediatamente después de la cura parasitológica con un tratamiento adecuado

contra la malaria (44, 45). Se encontró que los tres donantes positivos para anticuerpos antimaláricos que habían estado en zona endémica, la habían abandonado hacía más de tres años y, a pesar del tiempo transcurrido, persistían sus títulos de anticuerpos; factores tales como la capacidad de memoria del sistema inmune de cada persona, sumada a la intensidad de la exposición frente al *Plasmodium*, podrían ser una explicación de la persistencia de dichos anticuerpos. Lo anterior estaría respaldado por el hecho de que dos de esos donantes tenían antecedentes de haber sufrido malaria.

Es frecuente encontrar, en donantes asintomáticos provenientes de áreas endémicas para malaria, parasitemias muy bajas, no detectables mediante la gota gruesa (39, 46), lo cual podría suceder en el presente estudio, en el cual el 100% de las gotas gruesas examinadas fueron negativas para malaria. En este estudio se encontró que dos donantes seropositivos tenían títulos de 1:256; según la literatura, estos títulos podrían sugerir infección activa o reciente (4, 47).

En la actualidad, el banco de sangre del HUSVP acepta como donante de sangre a la persona que aprueba una encuesta epidemiológica en la cual se rechaza a quien se le ha diagnosticado la enfermedad y no ha recibido tratamiento antimalárico, al residente de zona endémica que lleve por fuera de la zona menos de 3 años y al viajero de áreas endémicas que haya llegado de ellas en el transcurso del año anterior; tales requisitos se ajustan a lo dispuesto en el manual de bancos de sangre (48). En el banco de sangre del HUSVP no se realizan rutinariamente pruebas de laboratorio para descartar malaria, como gota gruesa o extendido, ni se realizan pruebas serológicas como IFI, que proporcionen un poco más de seguridad en el momento de decidir si una determinada unidad de sangre se puede utilizar.

Es muy importante que los hospitales identifiquen y lleven un registro escrito de todos los casos de malaria transfusional (sospechosos o confirmados), ya que sólo así podríamos conocer la verdadera magnitud de este problema de salud pública. Consideramos que es importante dar a conocer a los donantes, en forma clara y precisa,

cuáles son los municipios en el departamento que presentan malaria; esta lista podría ir anexada en la encuesta del banco de sangre y así se mantendrían informados trabajadores y donantes.

Igualmente, se propone realizar una encuesta que consigne aspectos como el lugar habitual y el tiempo de residencia, los antecedentes de haber sufrido malaria, fecha del último episodio de malaria, la ingestión de fármacos antimaláricos, los antecedentes de viajes a áreas maláricas y el tiempo de permanencia en esas áreas, los antecedentes de transfusiones de sangre o hemoderivados, las hospitalizaciones, así sea por motivos diferentes a la malaria, y que ésta se complemente con exámenes de gota gruesa y pruebas serológicas de determinación de anticuerpos antimaláricos en personas cuya encuesta las haga sospechosas de ser potenciales transmisores de parásitos de malaria. Estos aspectos ofrecerían un mayor grado de seguridad al utilizar sangre para transfusiones, especialmente, en receptores inmunosuprimidos en quienes la infección malárica es más grave, (49).

Agradecimientos

Los autores desean dar las gracias a la Universidad de Antioquia por el apoyo económico, al Hospital Universitario San Vicente de Paúl, especialmente al personal del banco de sangre, por su colaboración en la realización del presente trabajo; a las bacteriólogas Marcela Echeverry y Adriana Correa, a las estudiantes Liliana Bedoya y Alexandra Uribe del Laboratorio de Hemoparásitos de la Universidad de Antioquia y al médico y epidemiólogo Jaime Carmona.

Referencias

1. **Ross R.** The prevention of malaria, segunda edición. London; John Murray, 1911.
2. **Woolsey G.** Transfusion for pernicious anaemia: two cases. *Ann Surg* 1911;53:132-4.
3. **Bruce-Chwatt LJ.** Transfusion malaria revisited. *Trop Dis Bull* 1982;79:827-40.
4. **Bruce-Chwatt LJ.** Transfusion malaria. *Bull W.H.O* 1974;50:337-46.
5. **Nahien BL, Lobel HO, Cannon SE, Campbell CC.** Reassessment of blood donor selection criteria for the United States travellers to malarious areas. *Transfusion* 1991; 31:798-804.
6. **Botero D, Restrepo M.** Malaria. En: Parasitosis humanas, segunda edición. Medellín: Corporación para Investigaciones Biológicas, 1992:149-90.
7. **Shulman IA.** Parasitic infections and their impact on blood donor selection and testing. *Arch Pathol Lab Med* 1994;118:366-70.
8. **Sazama K.** Prevention of transfusional-transmitted malaria: is it time to revisit the standards? *Transfusion* 1991;31:786-8.
9. **World Health Organization.** Malaria Action Programme. Severe and complicated malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80(suppl.):1-50.
10. **Wernsdorfer WH.** Transfusion malaria and other forms of induced malaria. En: Wernsdorfer WH and McGregor I, eds. *Malaria: principles and practice of malariaology*. London; Churchill Livingstone, 1988.(1):904-12.
11. **Arafa AS.** Post-operative transfusion malaria. *Trop Geogr Med* 1992;44(1-2):58-9.
12. **Nivet P, Capbern, M.** A case of transfusional *Plasmodium falciparum* malaria (Letter). *Presse Med* 1991;20(32):1567.
13. **Ben-Ammar B, Kallel H, Kallel R, Barsaoui S, Bousnina, S Ben-Ammar R.** Post-transfusion malaria. A propos of a case in a child. *Tunis Med* 1989;67(2):101-5.
14. **Giacomini T, Baledent F, Hanania G.** Transfusion malaria caused by *Plasmodium ovale*. A case. (Letter) . *Presse Med* 1988;17(15):755-6.
15. **Shunkert H, Handt S, de Wit M, Gladziwa U, Glockner WN, Sieberth HG.** Transfusion malaria in promyelocytic leukemia. *Dtsch Med Wochenschr* 1988;113(47): 1841-3.
16. **de Silva M, Contreras M, Barbara J.** Two cases of transfusion-transmitted malaria in the UK. *Transfusion* 1988;28(1):86.
17. **Guraevskii AP, Vorozhbit BS, Dasho luA, Titor VM, Lutsik BD.** Malaria caused by blood transfusion. *Med Parazitol Mosk* 1987;(1):62-4.
18. **Dover AS, Guinee VF.** Malaria transmission by leukocyte component therapy. *JAMA* 1971;217:1701-2.
19. **Garfield MD, Erschler WB, Maki DG.** Malaria transmission by the platelet concentrate transfusion. *JAMA* 1978;240:2285-6.
20. **Lozner EL, Newhouser LR.** Studies on the transmissibility of malaria by plasma transfusions. *Am J Med Sci* 1943;206:141-6.
21. **Dike AE.** Two cases of transfusion malaria. *Lancet* 1970;2:72-3.
22. **Thapa BR, Narang A, Bhakoo ON.** Neonatal malaria: a clinical study of congenital and transfusional malaria. *J Trop Pediatr* 1987;33(5):266-8.
23. **Cortés A, García M.** Prevalencia de marcadores para infección transmisible por transfusión en donantes voluntarios. *Colombia Médica* 1996;27:3-10.

24. **García JJG, Arnalich F, Peña JM, García-Alegría JJ, García Fernández F, Jiménez Herraéz C, et al.** An outbreak of *Plasmodium vivax* malaria among heroin users in Spain. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80:549-52.
25. **Talabiska DG, Komar MJ, Wytock DH, Rubin RA.** Post-transfusion acquired malaria complicating orthotopic liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 1996;91(2):376-9.
26. **Lefavor GS, Pierce JC, Frame JD.** Renal transplant-associated malaria. *JAMA* 1980;244:1820-1.
27. **Jonhston IDA.** Possible transmission of malaria by renal transplant. *Br Med J.* 1981;282:780.
28. **Dharmasena F, Gordon-Smith EC.** Transmission of malaria by bone marrow transplantation. *Transplantation* 1986;42:228.
29. **Cvafa F, Gugenheim J, Fabiani P.** Possible transmission of malaria by liver transplantation. *Transplant Proc* 1991;23:2664.
30. **Organización Mundial de la Salud.** Reunión sobre Bancos de Sangre como monitores de la prevalencia de infección humana por *Trypanosoma cruzi*, hepatitis y VIH. TDR/CHA/BANSA. 92.3. OMS, 1992.
31. **Rodríguez M, Morales LG.** La malaria y su relación con aspectos socioculturales, Cáceres-Antioquia, 1997. *Boletín Epidemiológico de Antioquia* 1998;14:77-83.
32. **Olaya P, Espinal C.** Detección de anticuerpos antiplasmodium por ELISA en donantes de sangre. *Biomédica* 1982;2(2):57-62.
33. **Ching R, Beltrán M, Nicholls S.** Malaria o paludismo en donantes de bancos de sangre en 6 seccionales de salud, 1997. Informe Quincenal Epidemiológico Nacional 1998;3(10):132-4.
34. **Bruce-Chwatt LJ.** Technique of staining thick films with field's stain. In: *Essential Malariology*. London: William Heinemann Medical Books Ltd, 1980:83-4.
35. **World Health Organization.** Management of uncomplicated malaria and the use of antimalarial drugs for the protection of travellers. Geneva 1995: WHO, Division of Control of Tropical Diseases. Report of an informal consultation. WHO/MAL/1075:98, 1996
36. **HijmansW, Schuit HRE, Jongsma APM, Ploem JS.** Performance testing of fluorescent antisera against human immunoglobulins. En: Holbosow EJ, ed. *Standardization in immunofluorescence*. Oxford: Blackwell Scientific Publications 1970:193-202.
37. **TragerW, Jansen J.** Human malaria parasites in continuous culture. *Science* 1976;(193): 673-5.
38. **Lambros C, Vanderberg J.** Sincronization of *Plasmodium falciparum* erythrocytic stages in culture. *J Parasitol* 1979;65(3):418-20.
39. **Sáez-Alquezar A, do Val Ramos AM, Di Santi SM, Branquinho MS, Kirchgatter K, Cordeiro I, et al.** Controle da malária transfusional em região endêmica e não endêmica do Brasil. *Rev Soc Bra Med Trop* 1998;31(1):27-34.
40. **Nuñez L, Linares J, Pérez AH.** Seroprevalence of antibodies against *Plasmodium falciparum* in volunteer donors from various cities in Venezuela. *Sangre Barc* 1992;37(2):141-3.
41. **Guerrero IC, Weniger BC, Schultz MG.** Transfusion malaria in the United States, 1972-1981. *Ann Intern Med* 1983;99:221-6.
42. **Akinboye DO, Ogunrinade AF.** Malaria and loaisis among blood donors at Ibadan, Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987;81:398-9.
43. **Molineaux L, Gramiccia G.** The Garki Project: Research on the epidemiology and control of malaria in the Sudan Savanna of West Africa. WHO, Geneva, 1980:1-311.
44. **Walter Ferreira A.** Inmunodiagnóstico de la malaria. En: López FJ y Schmunis G, eds. *Diagnóstico de malaria*. OPS, Publicación Científica No 512, 1988:65-75.
45. **Ambroise-Thomas P, Garin JP, KienTruongT, Saliou P.** Evolution de anticorps fluorescents au cours du paludisme humain et malariathérapie a *Plasmodium vivax*. *BullWHO* 1971;44:689-99.
46. **Ferreira MU, Camargo LM, de Carvalho ME, Ninomia RT, García LA, dos Santos FR.** Prevalence and levels of IgG and IgM antibodies against *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in blood donors from Rondonia, Brazilian Amazon. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1993;88(2):263-9.
47. **Sulzer AJ, Wilson M.** The indirect fluorescent antibody test for the detection of occult malaria in blood donors. *BullWHO* 1971;45:375-9.
48. **Ministerio de Salud.** Manual de normas técnicas, administrativas y de procedimientos para bancos de sangre. Santa Fe de Bogotá DC, 1996. Decreto 1571 de 1993.
49. **Joishy SK, Lopez CG.** Transfusion-induced malaria in a splenectomized β -thalassemia major patient and review of blood donor screening methods. *Am J Hematol* 1980;8:221-9.